هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، ١٤ تا ١٧ شهریور ماه ۱۳۹۰، دانشگاه صنعتی اصفهان

اثر رژیم آبیاری بر غلظت کربوهیدراتهای محلول و پرولین برگ چهار ژنوتیپ کدو تخم کاغذی (*Cucurbita pepo L.*)

عالیه طاهری(۱)، پرویز احسان زاده(۲)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان ۲-دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

بررسی واکنش های فیزیولوژیک ژنوتیپ های مختلف کدو تخم کاغذی به تنش خشکی می تواند به شناسایی مکانیسم های مؤثر در مقاومت به خشکی کمک نماید. در این راستا به منظور مطالعه اثر رژیم های آبیاری بر میزان قندهای محلول و پرولین چهار ژنوتیپ گیاه دارویی کدو تخم کاغذی، یک آزمایش مزرعه ای در سال زراعی ۱۳۸۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. سطوح مختلف تیمار آبیاری شامل آبیاری پس از ٦٥، ۹۵ و ۱۳۰ میلیمتر تبخیر از طشت تبخیر کلاس A (به ترتیب I_1= شاهد، I_2= تنش متوسط آب و I_3= تنش شدید آب) به عنوان فاکتور اصلی و چهار توده محلی کدو تخم کاغذی (اردبیل، فریدون شهر، نجف آباد و چهارمحال و بختیاری) به عنوان فاکتور فرعی بودند. طرح به صورت کرت های خرد شده در قالب بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. میزان کربوهیدرات های محلول و پرولین برگ اندازه گیری شدند. نتایج حاصله نشان داد که سطوح مختلف آبیاری اثر معنی داری بر صفات مورد مطالعه داشت. افزایش تنش خشکی منجر به افزایش میزان پرولین و قندهای محلول در هر چهار ژنوتیپ گردید. در میان ژنوتیپ های مورد بررسی ژنوتیپ چهارمحال دارای بیشترین میزان قندهای محلول بود. ولی به نظر می رسد که در برگ کدو تخم کاغذی هم پرولین و هم کربوهیدراتهای محلول در پاسخ به تشدید کمبود آب افزایش یافته و می توانند در میزان تحمل به این تنش محیطی مؤثر واقع شوند. بین ژنوتیپ های مورد بررسی اختلاف معنی داری از نظر پرولین وجود نداشت.

کلمات کلیدی: تنش خشکی، کدو تخم کاغذی، کربوهیدرات محلول، پرولین

مقدمه

کدوی تخم کاغذی (Cucurbita pepo L.) گیاهی علفی و یکساله از خانواده کدوئیان می باشد. روغن بدست آمده از این گیاه دارای مواد ارزشمندی همچون اسیدهای چرب (شامل لینولئیک اسید، اولئیک اسید، پالمتیک اسید و استئاریک اسید)، ویتامین A و E، کارتنوئیدها و پرتوکلروفیل و غیره می باشد. در حال حاضر از مواد موثره این گیاه برای درمان بیماری هایی نظیر تورم پروستات، درمان سوزش مجاری ادراری، ایجاد تعادل هورمونی در زنان، تنظیم دستگاه گوارش به صورت گسترده مورد استفاده قرار می گیرد (۱۰). تنش خشکی یک پدیده طبیعی است که در بسیاری موارد در گیاهان اتفاق می افتد. در چنین شرایطی گیاه به منظور ادامه جذب آب از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله پرولین و کربوهیدرات های محلول، پتانسیل اسمزی خود را کاهش می دهد (۱۲). اشرف و همکاران(۷) ابراز داشتند که تشدید تجمع پرولین همراه با تشدید کمبود آب بیش از آنکه مبین تفاوت ژنوتیپ ها به تنش کمبود آب باشد، احتمالا بیانگر شدت تنش کمبود آب است. قندهای محلول نیز گروهی از آسمولیت های سازگارند که در شرایط خشکی تجمع یافته و به عنوان عامل یا محافظان اسمزی عمل می نمایند و افزایش قندها در اثر تنش با تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس و همچنین با پایدار کردن غشاءها و پروتئین ها در ارتباط است (۱۱). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر تنش خشکی بر تغییرات کربوهیدراتهای محلول و پرولین چهار ژنوتیپ کدو تخم کاغذی بود.

مواد و روش ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک نجف آباد اجرا گردید . آزمایش در قالب طرح آماری بلوک های کامل تصادفی به صورت کرت های خرد شده در چهار تکرار اجرا گردید. رژیم های آبیاری بر مبنای تبخیر تجمعی از طشت تبخیر کلاس A شامل سه سطح آبیاری پس از ٦٥ (I_1)، ۹۵ (I_2) و ۱۳۰(I_3) میلی متر تبخیر به ترتیب به عنوان شاهد بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید کمبود آب به عنوان سطح فاکتور اصلی به طور تصادفی در

کرت های اصلی و چهار ژنوتیپ محلی کدو تخم کاغذی (شامل توده های استان اردبیل، استان چهارمحال و بختیاری، شهرستان نجف آباد و شهرستان فریدون شهر) به عنوان سطوح فاکتور فرعی در کرت های فرعی جای گرفتند. ابعاد کرت اصلی ٤×٢٤ و ابعاد هر کرت فرعی ٤×٥ متر و کشت به صورت جوی و پشته انجام گرفت که فاصله پشته ها از هم ٤ متر بودند. فاصله بذور از هم در روی پشته ٥٠ سانتی متر بود. اعمال رژیم آبیاری پس از استقرار کامل گیاه آغاز و با حصول ٨٠٪ رسیدگی فیزیولوژیک متوقف شد.

اندازه گیری پرولین مطابق روش بیتس و همکاران (٩) انجام گرفت. به این منظور برگهایی بالغ اما جوان از گیاه در مرحله رشد میوه ها جدا گردید، سپس برگها در فریزر منفی ٨٠ درجه سانتی گراد تا زمان مناسب برای اندازه گیری پرولین نگهداری گردید. بر اساس روش بیتس و همکاران ابتدا ٤٠٠ میلی گرم از برگها را به صورت پودر در آورده و سپس با ١٠ میلی لیتر سولفاسالیسیلیک اسید ٣ درصد حل گردید. سپس محلول حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و ٢ میلی لیتر اسیداستیک در یک لوله آزمایش ریخته شد. محلول حاصل را به خوبی تکان داده و به مدت یک ساعت در حمام بن ماری در دمای ١٠٠ درجه سانتی گراد قرار داده شد و در پایان لوله ها را پس از خروج از بن ماری در درون آب صفر درجه قرار داده شد. پس از هم دما شدن لوله ها به آن ها ٤ میلی لیتر تولوئن اضافه گشت. پس از کالیبره کردن دستگاه بوسیله تولوئن، قرائت نمونه ها در طول موج ٥٢٠ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گرفت. میزان پرولین طبق رابطه (١ و ٢) بر اساس میکروگرم پرولین در گرم برگ تازه بدست آمد.

$$x_1=\frac{Y}{0.0079} \qquad (١)$$

در این رابطه Y شدت جذب دستگاه می باشد.

$$X=\frac{X1\times B\times C}{FW\times 1000} \qquad (٢)$$

در این رابطه B تولوئن مصرفی (ml)، C حجم اسید سولفوسالسیلیک و FW وزن تر برگ می باشد.

به منظور اندازه گیری غلظت کربوهیدرات های محلول در مرحله آغاز میوه دهی نمونه های برگ بالغ فعال ابتدا در دمای ٨٠ درجه سانتی گراد بمدت ٤٨ ساعت خشک شدند، پس از آن کربوهیدرات های محلول از طریق سه بار عصاره گیری یک گرم ماده خشک در ١٥ میلی لیتر الکل اتیلیک داغ ٨٠ درصد استخراج شده و عصاره حاصل با استفاده از ٥ میلی لیتر سولفات روی ٥٪، ٤/٧ میلی لیتر هیدروکسید باریم ٠/٣ نرمال صاف گردید. پس از اضافه کردن یک میلی لیتر فنل ٥٪، ٥ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به ٢ میلی لیتر از نمونه های صاف شده، غلظت کربوهیدرات های محلول بوسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ٥٣٥ نانومتر و با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت های مختلف گلوکز تعیین گردید (٢).

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ١) حاکی از اثر معنی دار رژیم های آبیاری بر غلظت پرولین و قندهای محلول برگ می باشد. مقایسه میانگین ها (جدول ٢) نشان داد با افزایش کمبود آب میزان پرولین افزایش یافت. افزایش پرولین نشان دهنده ی نقش این اسیدآمینه در تنظیم فشار اسمزی در شرایط تنش می باشد. علاوه بر تنظیم اسمزی پرولین به عنوان یک محافظ در برابر تنش عمل می کند، بدین ترتیب که به طور مستقیم با ماکروملکول ها اثر متقابل داشته و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی آن ها تحت شرایط تنش کمک می کند(١). در بررسی که بر روی بادنجان (٦) صورت گرفت، تنش کمبود آب منجر به افزایش پرولین در برگ شد که با آبیاری مجدد از میزان تجمع پرولین کاسته شد. بین ژنوتیپ های مورد مطالعه از نظر میزان پرولین در برگ تحت شرایط تنش اختلاف معناداری وجود نداشت. با اینحال ژنوتیپ اردبیل کمترین میزان پرولین و ژنوتیپ چهارمحال بیشترین میزان پرولین را تحت شرایط تنش در خود تجمع داد. تجمع بیشتر پرولین در برخی ژنوتیپ ها را

می توان به مقاومت آنها به شرایط تنش و تنظیم قوی اسمزی در آنها نسبت داد(۱). باندراسکا و همکارانش (۸) در مطالعه خود گزارش کردند که میزان پرولین در برگهای جو دو برابر افزایش نشان داد که نشان دهنده ی مقاومت به خشکی است و ارقام مقاوم میزان پرولین بیشتری داشتند. با افزایش کمبود آب میزان قندهای محلول در برگ افزایش یافت. افزایش قندهای محلول در زمان تنش را می توان به علت توقف رشد یا سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیر فتوسنتزی و همچنین تخریب قندهای نامحلول که باعث افزایش قندهای محلول نیز می شود، بیان کرد. برخی مطالعات افزایش قندهای محلول در پاسخ به استرس کم آبی را بدلیل کاهش انتقال این مواد از برگها بدلیل مصرف کمتر و در نتیجه کاهش رشد نسبت می دهند(۳). در بررسی لاهوتی و همکاران (۵) اثر تنش خشکی بر تغییرات میزان قندهای محلول و پتاسیم نتایج نشان داد که میزان قندهای محلول در ریشه و برگ و مقدار پتاسیم در اندام های هوایی افزایش یافت. ایشان بیان داشتند که این امر به دلیل نقش این دو در تنظیم اسمزی می باشد. اثر ژنوتیپ بر میزان قندهای محلول برگ معنادار گردید. بیشترین تجمع قندهای محلول را ژنوتیپ چهارمحال و کمترین میزان آن مربوط به ژنوتیپ اردبیل بود. به نظر می رسد ژنوتیپ چهارمحال ژنوتیپ مقاوم تری به شرایط تنش کمبود آب در مقایسه با سایر ژنوتیپ ها باشد و افزایش بیشتر کربوهیدراتهای محلول برگ تحت تنش خشکی در این ژنوتیپ نسبت به سایر ژنوتیپ ها را می توان به تنظیم اسمزی موثرتر در این ژنوتیپ نسبت داد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس برای غلظت پرولین و کربوهیدرات های محلول برگ چهار ژنوتیپ کدو تخم کاغذی تحت تاثیر رژیم های مختلف آبیاری

		میانگین مربعات	
منابع تغییر	درجه آزادی	پرولین	کربوهیدراتهای محلول
بلوک	۳	۰/۵۹	۲٦۰/۳۸
آبیاری	۲	۱۰۵/٤۷ **	۳۷٦۲/٦٤ **
خطای الف	٦	۲/۵۳	۵۲/۹۳
ژنوتیپ	۳	۱٦/٦۰ ns	۹٤۵/۳۵ *
ژنوتیپ × آبیاری	٦	٤/٦۹ ns	۱۱۵/۹۵ ns
خطای ب	۲۷	٦/۳۳	۲۱۱/۷۸

* و ** به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح ۵ ٪ و ۱٪ ns: عدم اختلاف معنی

جدول ٢- مقایسه میانگین برای غلظت پرولین و کربوهیدرات های محلول برگ چهار ژنوتیپ کدو تخم کاغذی تحت تاثیر رژیم های مختلف آبیاری

عامل آزمایشی	پرولین (میکروگرم در گرم برگ)	کربوهیدرات های محلول (میلی گرم در گرم برگ)
آبیاری		
٦٥ mm	٤/٩٦ b *	٢٩/٢٦ c
٩٥ mm	٥/٦٥ b	٣٩/٤١ b
١٣٠ mm	٩/٧١ a	٥٩/ ٤٠ a
ژنوتیپ		
اردبیل	٥/٧٠ b	٣٠/٨٥ b
چهارمحال	٧/٩٣ a	٥٢/٣٢ a
نجف آباد	٥/٨٣ ab	٤٤/٤٦ a
فریدون شهر	٧/٦٤ ab	٤٣/١٣ a

- در هر ستون و در هر عامل آزمایشی میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی دار آماری بر اساس LSD در سطح احتمال ٪ هستند.

قدردانی: هزینه اجرای این تحقیق توسط دانشگاه صنعتی اصفهان تایید شده است.

منابع مورد استفاده

١-امیدبیگی، ر . ١٣٧٩. رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد سوم. انتشارات آستان قدس رضوی. چاپ اول.

٢- حدادچی، غ. ١٣٦٥. بیوشیمی فیزیولوژی گیاهی (عملی). انتشارات بخش فرهنگی جهاد دانشگاهی منابع طبیعی دانشگاه مازندران. چاپ اول.

٣- شریعت، آ.، و م، عصاره. ١٣٨٧. اثر تنش خشکی بر رنگیزه های گیاهی، پرولین، قندهای محلول و پارامترهای رشد چهار گونه از اکالیپتوس. پژوهش و سازندگی، ٧٨: ١٣٩-١٤٨

٤- کریمی، م.، ١٣٦٦. گزارش آب و هوای منطقه مرکزی ایران، انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه صنعتی اصفهان.

٥- لاهوتی، م.، ف، عباسی، و گ، ترحمی. ١٣٨٩. بررسی اثرات ناشی از خشکی بر روی تغییرات قندهای محلول، میزان کلروفیل و پتاسیم در گیاه نوروزک *(Salvia lreiifolia Benth)*. فصل نامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی زنجان: ٩(٣) ١-٧.

6- Arzani, A. and N. L. Darvey. 2001. The effect of colchicine on triticale anther derived plants: Microspore pre-treatment and haploid- plant
treatment using a hydroponic recovery system. *Euphytica* 122: 235-241.

7-Ashraf, M., and M. R. Food. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant obiotic stress resistance. *Environ. Exp. Botan. J*. 59: 206-216.

8- Bandurska, H. and A. Stroinski. 2003. ABA and Proline accumulation in leaves and roots of wild *(Hordeum Spontaneum)* and cultivated *(Hordeum vulgare maresi)* barley genotype under deficit water conditis. *Acta. Physiol. Plant*. 25: 55-61.

9- Bates, L. S. R. P. Waldren and I. D. Teare.1972. Rapid determination of free proline for water- stress studies. Plant and Soil. 39: 205-207.

10- Bernath, J. 1993. Wild and cultivated medicinal plants. Mezo publication. Budapest.

11- Bohnert, K.H., Nelson, D.E., Jensen, R.G. (1995). Adaptations to environment stresses. Plant Cell,7,1099-1111.

12- Martin, M., Micell, F., Morgan, J.A., Scalet M., Zebi, G. (1993). Synthesis of osmotically active substancec in winter Wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. Journal of Agronomy and Crop Science, 171, 176 – 184.

Effect of irrigation regime on soluble carbohydrate and proline contant of four oilseed pumpkin genotypes

Aliyeh Taheri and Parviz Ehsanzadeh, MSc, Student and ASSoc, Prof., Depr of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan university of Technology

Absteract
Evaluation of the responses of oilseed pumpkin genotypes to water deficit stress, may be helpful in recognization of mechanisims of drought tolerance in this medicinal plant. This study was counducted to evaluate the soluble carbohydrates and proline content of four genotypes of oilseed pumpkin under three irrigation regimes in a 4- replicate RCBD split plot field experiment, in Lavark Research Farm, Isfahan University of Technology in 2010. Three levels of irrigation (irrigation after 65, 95 and 130 ml evaporation from a Class-A Pan, indicating control, moderate and sever water deficit) were served as main plots and four genotypes (Ardabil, Feraidonshahr, Najaf abad and Chahar Mahal) were considered as subplots. Both proline and soluble carbohydrates of fully expanded mature green leaves were masured. Irrigation left significant effects on leaf proline and carbohydrate content, leading to significant increased in the latter compounds under severe water deficit. Whit chaharmahal indicated the greatest increase in soluble carbohydrates. With sever water deficit, genotypes did not differ in terms of proline content. It seems that both proline and soluble carbohydrate play significant roles in resistance of oilseed pumpkin to water deficit conditions.
Key words: water stress, oilseed pumpkin, soluble carbohydrates, proline